Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
(Direktor: Professor Dr. K. Brecht)
und dem Institut für Physiologie der Medizinischen Hochschule
Hannover
(Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. Bartels)

Die freie und erleichterte Diffusion von Kohlendioxid in Erythrozyten und Hämoglobinlösungen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Gerolf Gros
aus Ettlingen

1969

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543901_0102

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
(Direktor: Professor Dr. K. Brecht)
und dem Institut für Physiologie der Medizinischen Hochschule
Hannover
(Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. Bartels)

Die freie und erleichterte Diffusion von Kohlendioxid in Erythrozyten und Hämoglobinlösungen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Gerolf Gros
aus Ettlingen

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. J. Hirschmann
1. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Moll (Prof. Dr. K. Brecht)
2. Berichterstatter: Prof. Dr. J. Bierich

Inhaltsverzeichnis

Einleitung 3

Methodik 5

- Prinzip 5
- Untersuchungsmaterial 5
- Herstellung der Schichten 6
- Kammern 7
- Versuchsdurchführung 7
- Analysen 8
- Berechnungen 8

Ergebnisse 12

1. Die CO_2-Diffusionskonstante in Wasser 12
2. Die CO_2-Diffusionskonstante in Silikonkautschuk und Teflon 12
3. Die CO_2-Diffusionskonstante in hochprozentigen Hämoglobinlösungen 13
4. Die Abhängigkeit der CO_2-Diffusionskonstanten von der Hämoglobinkonzentration 14
5. Der Einfluß der Erythrozytenmembran auf die CO_2-Diffusion 14
6. Die erleichterte CO_2-Diffusion 15

Diskussion 18

1. Die freie Diffusion von CO_2 in Erythrozyten

   Bemerkungen zur Methodik: 18

   - Das Meßprinzip 18
   - Der Einfluß der Milliporefilter auf die CO_2-Diffusion 18

   Schlußfolgerungen aus den Messungen der freien Diffusion 19

   - Der Einfluß des intraerythrozytären Hämoglobins auf die CO_2-Diffusion 19
   - Der Zeitbedarf der CO_2-Diffusion in den Erythrozyten 20

2. Der Einfluß der Erythrozytenmembran auf die CO_2-Diffusion 22

3. Die erleichterte CO_2-Diffusion 25

Die physiologische Bedeutung der erleichterten CO_2-Diffusion 26

Der Mechanismus der erleichterten CO_2-Diffusion 26

1. Die erleichterte CO_2-Diffusion durch Carbamino-Hämoglobin-Diffusion 28

2. Die erleichterte CO_2-Diffusion durch Bicarbonatdiffusion und H-Ionen-Transport 30

Zusammenfassung 37

Tabellen 39

Abbildungen 46

Literaturverzeichnis 52

Einleitung

Die CO_2-Diffusion im Erythrozyten ist ein Teilprozess der CO_2-Aufnahme des Blutes im Gewebe und der CO_2-Abgabe des Blutes in der Lunge. Während die anderen Teilprozesse dieser Vorgänge, die Diffusion von CO_2 im Gewebe, die Reaktion von CO_2 und H_2O sowie der HCO_3^-- und Cl^--Austausch zwischen Erythrozyten und Plasma untersucht worden sind (siehe beispielsweise ROUGHTON, 1963; SIESJÖ und THEWS, 1962; PIIPER, 1964), liegen unseres Wissens noch keine Messungen der CO_2-Diffusion im Erythrozyten vor. Im einzelnen erscheinen uns folgende Fragen noch unbeantwortet:

1. In welchem Maße wird die freie Diffusion von CO_2 in den Erythrozyten durch das konzentriert vorliegende Hämoglobin verlangsamt?
2. Welchen Einfluß hat die lipidhaltige Membran der Erythrozyten auf die Diffusion des vergleichsweise hydrophilen CO_2?
3. Tritt in den Erythrozyten neben der freien Diffusion eine erleichterte Diffusion von CO_2 auf?

In der vorliegenden Arbeit wird über Messungen der CO_2-Diffusion in Erythrozyten und Hämoglobinlösungen berichtet. Zur Messung der Abhängigkeit der CO_2-Diffusionskonstanten von der Hämoglobinkonzentration wurden die Diffusionskonstanten bei unterschiedlichen Hämoglobinkonzentrationen bestimmt. Zur Messung des Einflusses der Erythrozytenmembran

auf die CO_2-Diffusion wurde der CO_2-Durchtritt durch Erythrozytenschichten vor und nach Zerstörung der Membranen durch Saponin ermittelt. Die erleichterte Diffusion von CO_2 wurde aus den CO_2-Diffusionsströmen in unterschiedlichen CO_2-Partialdruckbereichen berechnet.

Methodik

Prinzip: Hämoglobinlösungen wurden in 150 µ dicke Filter eingesaugt, zentrifugierte Erythrozyten wurden zwischen zwei im Abstand von 1 mm ausgespannte Silikonmembranen eingelagert. Die so gebildeten dünnen, planparallelen Schichten wurden als Trennwände zwischen zwei von Gas durchströmte Kammern eingesetzt (s. Abb. 1a). Die CO_2-Partialdruck-Differenz führte zu einem CO_2-Diffusionsstrom durch die Schichten. Dieser Diffusionsstrom wurde nach Einstellung des stationären Zustandes gemessen; aus dem Meßwert wurde die Diffusionskonstante berechnet.

Untersuchungsmaterial: Rinderblut wurde nach Zusatz von Heparin, Kaliumoxalat und Natriumfluorid 15 Min. bei 3000 g zentrifugiert. Das überstehende Plasma und die Leukozytenschicht wurden abgesaugt. Die Erythrozyten wurden je nach gewünschter Hämoglobinkonzentration mit isotoner oder hypertoner NaCl-Lösung gewaschen und anschließend ca. 30 Min. bei 3000 g zentrifugiert. Zur Hämolyse wurden 10 mg Saponin pro ml Erythrozyten in Form einer 50 g %igen Lösung zugegeben. Zur Einstellung niedriger Hämoglobinkonzentrationen wurden die Hämolysate mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Zu den Versuchen mit stroma- und phosphatfreien Hämoglobinlösungen wurde zweimal kristallisiertes Rinderhämoglobin[1)] in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und mit NaOH auf pH 7,69 titriert.

---

1) Firma SERVA, Heidelberg

Suspensionen mit angereicherten Erythrozytenmembranen und Erythrozytenstromata wurden nach der Methode von PARPART (1942) hergestellt.

Herstellung der Schichten: Filterfreie Schichten wurden auf folgende Weise hergestellt: auf den beiden Seiten eines 1 mm dicken Messingringes (innerer Durchmesser 2 cm) wurden Silikonmembranen (Dicke ca. 100 µ) aufgespannt und durch 2 weitere, auf beiden Seiten angeklemmte Messingringe fixiert (s. Abb. 1a). Die Methode, mit Hilfe aufgespannter Kunststoff-Membranen Schichten definierter Dicke herzustellen, wurde von SIESJÖ und THEWS (1962) beschrieben. Nach einem Vorschlag von HILPERT (Tübingen) waren in dem mittleren Ring zwei einander gegenüberliegende Kanülen eingebaut. Mit Hilfe dieser Kanülen konnte das zu untersuchende Material in den Spalt zwischen den Membranen eingefüllt werden. Beim Einfüllen wurden die Silikonmembranen durch von außen aufgesetzte Klötze mechanisch stabilisiert.

Mit Milliporefiltern[2)] (HAWP0 4790) ist die Herstellung von 150 µ dicken Schichten von Hämoglobinlösungen möglich (SCHOLANDER,1960). Die Milliporefilter wurden hierzu in die zu untersuchenden Flüssigkeiten gelegt, bis sie durchtränkt waren. Die überschüssige Flüssigkeit wurde abgestrichen. Die getränkten Milliporefilter wurden zum Schutz vor Austrocknung auf beiden Seiten mit Silikonmembranen bedeckt und dann zwischen 2 Messingringe gelegt (s. Abb. 1b), auf die die beiden Kammern aufgepresst wurden.

---

2) Firma A. Hofmann, Bamberg

Die Kammern wurden aus Plexiglas hergestellt. Die Meßkammer (Kammer 2) hatte eine Tiefe von 1/2 mm, ein Volumen von 157 µl. Das Volumen der Kammer 1 betrug 2 ml.

Versuchsdurchführung: Durch die Kammer 1 wurden bei einem Gasstrom von 100 ml/min CO_2-N_2-Gemische durchgeleitet. Auf Grund dieses hohen Gasstromes war in dieser Kammer trotz der Diffusionsvorgänge die CO_2-Konzentration von der CO_2-Konzentration des einströmenden Gases nicht meßbar verschieden. Durch die Kammer 2 pumpte eine Perfusionspumpe mit einem Fördervolumen von 0,5 ml/min reinen Stickstoff. Zwei Quecksilberfallen verhinderten die Diffusion von Gas aus dieser Kammer durch die Ansatzstutzen (s. Abb. 1). In Kammer 2 stellen sich unter diesen Bedingungen Konzentrationen von CO_2 und N_2 ein, welche im stationären Zustand von dem Diffusionsstrom durch die Trennschicht und von dem Fördervolumen der Perfusionspumpe abhängig sind. Das aus Kammer 2 austretende Gas wurde mit einer Gasüberführungspipette nach SCHOLANDER (1947) aufgefangen.

Aus den CO_2-Konzentrationen der beiden Kammern und dem Fördervolumen der Perfusionspumpe wurden die CO_2-Partialdruckdifferenz und der CO_2-Diffusionsstrom bestimmt. Da auch die Durchtrittsfläche und die Schichtdicke bekannt waren, konnte der Diffusionsstrom pro Fläche und Partialdruckgradient bei der Schichtdicke der Einheit, d.i. die Diffusionskonstante des untersuchten Mediums, berechnet werden.

Analysen

Die Bestimmung der CO_2-Konzentration der Gase erfolgte im 0,5 ml-Apparat nach SCHOLANDER (1947).

Die Hämoglobinkonzentrationen wurden photometrisch nach Umwandlung in Cyanmethämoglobin bestimmt (HUCKABEE, 1955; KLEIHAUER und BETKE, 1957).

Zur Ermittlung des Hämolysegrades der Erythrozyten nach dem Diffusionsversuch wurden die Erythrozyten in 1 g %iger NaCl-Lösung suspendiert. Aus der Hämoglobinkonzentration der Suspension und des Überstandes nach Zentrifugieren der Suspension wurde der Hämolysegrad berechnet.

Zur Bestimmung der CO_2-Bindungskurve wurden die Erythrozyten-Zentrifugate im LAUE-Tonometer (s. BARTELS et al., 1959) mit unterschiedlichen CO_2-Drucken äquilibriert und anschließend in Glasröhren durch zweimaliges Gefrieren und Auftauen hämolysiert. Danach wurden die pH-Werte dieser Hämolysate mit der Mikro-Elektrode nach SIGGARD-ANDERSEN, ENGEL, JØRGENSEN und ASTRUP (1960)[1)] bestimmt. Der Gehalt an gelöstem und gebundenem CO_2 wurde mit dem manometrischen Apparat nach VAN SLYKE (s. BARTELS et al., 1959) ermittelt. Zur Bestimmung des HCO_3^--Gehaltes wurde von der gesamten extrahierbaren CO_2-Menge die physikalisch gelöste CO_2-Menge abgezogen, welche aus der Löslichkeit und dem Partialdruck errechnet wurde.

Berechnungen

$\dot{V}_{CO_2}$, der CO_2-Durchtritt pro Zeit durch das System von Trenn-

1) Firma Radiometer, Kopenhagen

schichten (Silikonmembran, Schicht des Untersuchungsmaterials, Silikonmembran), ergibt sich unter den Bedingungen der beschriebenen Versuchsanordnung aus $\dot{V}_p$, dem auf STPD reduzierten Fördervolumen der Pumpe, F_{CO_2}, der CO_2-Fraktion des aus der Kammer 2 ausströmenden Gases und $\dot{V}_{N_2}$, dem N_2-Durchtritt durch die Schicht:

$$\dot{V}_{CO_2} = \frac{(\dot{V}_p - \dot{V}_{N_2}) \times F_{CO_2}}{1 - F_{CO_2}} \approx \frac{\dot{V}_p \times F_{CO_2}}{1 - F_{CO_2}} \quad \ldots (1)$$

wobei $\dot{V}_{N_2}$ gegenüber $\dot{V}_p$ unter den vorliegenden Versuchsbedingungen vernachlässigt werden kann.

$DF_{CO_2,t}$, die CO_2-Diffusionskapazität des Systems von Trennschichten, ist definitionsgemäß gleich dem CO_2-Diffusionsstrom pro CO_2-Partialdruckdifferenz zwischen beiden Kammern:

$$DF_{CO_2,t} = \frac{\dot{V}_{CO_2}}{P_{CO_2,1} - P_{CO_2,2}} \quad \ldots (2)$$

wobei sich die CO_2-Partialdrucke $P_{CO_2,1}$ und $P_{CO_2,2}$ aus den Gesamtdrucken b_1 und b_2 in den beiden Kammern, den CO_2-Fraktionen und der Wasserdampf-Spannung, P_{H_2O}, ergeben.

$$P_{CO_2,1} = (b_1 - P_{H_2O}) \times F_{CO_2,1} \quad \ldots (3)$$

$$P_{CO_2,2} = (b_2 - P_{H_2O}) \times F_{CO_2,2} \quad \ldots (4)$$

Wenn die Diffusionskapazitäten der Silikonmembranen, $DF_{CO_2,SI}$, bekannt sind (s. nächstes Kapitel), kann die Diffusionskapazität des aus dem Untersuchungsmaterial bestehenden Schichtanteils, $DF_{CO_2,x}$, berechnet werden:

$$DF_{CO_2,x} = \frac{DF_{CO_2,SI} \times DF_{CO_2,t}}{DF_{CO_2,SI} - 2 \times DF_{CO_2,t}} \quad \ldots (5)$$

Wird die Diffusionskapazität des aus dem Untersuchungsmaterial bestehenden Schichtanteils durch die Diffusionsfläche der Schicht, F, geteilt und mit der Dicke der Schicht, d, multipliziert, so erhält man die CO_2-Diffusionskonstante des Untersuchungsmaterials, $K_{CO_2,x}$.

$$K_{CO_2,x} = \frac{d}{F} \times DF_{CO_2,x} \quad \ldots (6)$$

Zur Messung der Diffusionskapazität der Silikonmembranen wurden diese zwischen die Kammern eingesetzt. Kammer 2 wurde mit CO_2-freiem N_2, Kammer 1 mit einem CO_2-haltigen Gas durchströmt. Außer der CO_2-Konzentration des die Kammer 2 verlassenden Gases, $F_{CO_2,2}$, wurde auch das Zeitvolumen des aus der Kammer 2 austretenden Gases gemessen. Die Diffusionskapazität der Silikonmembranen für CO_2 wurde dann wie folgt berechnet:

$$DF_{CO_2,SI} = \frac{\dot{V}_S \times F_{CO_2,2}}{P_{CO_2,1} - P_{CO_2,2}} \quad \ldots (7)$$

wobei $\dot{V}_S$ das auf STPD reduzierte Zeitvolumen ist. Analog wurden die Diffusionskonstanten in Teflon bestimmt.

Es ist anzunehmen, daß die Durchlässigkeit der Silikonmembran durch die Auflage auf dem wahrscheinlich relativ impermeablen Festkörperanteil der Milliporefilter beeinträchtigt

wird. Bei einem Festkörperanteil der Filter von etwa 20% (Angabe der Lieferfirma) stehen an der dem Filter zugekehrten Seite der Silikonmembran etwa 20% der Gesamtfläche der Silikonmembran für die Diffusion nicht zur Verfügung. An der freien Seite dagegen ist die Durchtrittsfläche nicht verringert. Näherungsweise dürfte damit die Diffusionskapazität der Silikonmembran durch die Auflage auf dem Millipore-filter um 10% vermindert sein. Da bei den Diffusionsmessungen an 30-35 g %igen Hämoglobin-Lösungen der Anteil der Silikonmembranen am gesamten Diffusionswiderstand der Schichten nur ca. 10% betrug, hat die Unsicherheit dieser Abschätzung bei diesen Messungen keine Bedeutung.

Ergebnisse

1. Die CO_2-Diffusionskonstante† in Wasser

Tabelle 1 gibt die Werte für die Diffusionskonstanten von CO_2 in Wasser bei 22°C an. Die CO_2-Diffusionskonstanten wurden an mit Wasser getränkten Filtern und an filterfreien, durch Silikonmembranen stabilisierten H_2O-Schichten bei einer CO_2-Partialdruckdifferenz von etwa 1 atm. gewonnen. Diese Werte wurden zur Prüfung der Methode gemessen. Zum Vergleich sind Werte anderer Autoren angeführt.

Der Vergleich zeigt, daß die Werte, die an 1 mm dicken filterfreien Schichten gewonnen wurden, mit den Werten der Literatur gut übereinstimmen, während die Werte, die an getränkten Milliporefiltern gemessen wurden, etwa 20% tiefer als die angegebenen Diffusionskonstanten liegen.

Bei 38°C betrug nach Messungen an getränkten Milliporefiltern die CO_2-Diffusionskonstante in Wasser 92% des Wertes bei 22°C; der Temperaturkoeffizient der Diffusionskonstante ist danach - 0,5%/°C. Dieser Wert stimmt mit der Temperaturabhängigkeit des Diffusionskoeffizienten (HIMMELBLAU , 1964) und der Temperaturabhängigkeit der Löslichkeit von CO_2 in Wasser (BARTELS et al., 1959) genau überein.

2. Die CO_2-Diffusionskonstante von Silikonkautschuk und Teflon

Zur Bestimmung der CO_2-Diffusionskonstanten in Hämoglobinlösungen war es erforderlich, die CO_2-Diffusionskonstante in

---

†Die Diffusionskonstante ist definiert als das Produkt aus Löslichkeit und Diffusionskoeffizient; sie entspricht dem von THEWS (1960) geprägten Begriff der Leitfähigkeit.

Silikonkautschuk zu messen. Die Werte sind in Tabelle 2 angegeben. Zum Vergleich ist die CO_2-Diffusionskonstante in Teflon gemessen worden, welches in Oxygenatoren als Trennmembran Verwendung findet. Nach den Werten ist die Diffusionskonstante in Silikonkautschuk etwa 60% höher als die CO_2-Diffusionskonstante in Wasser; sie beträgt das 100-fache der Diffusionskonstanten in Teflon.

3. Die CO_2-Diffusionskonstante in hochprozentigen Hämoglobinlösungen

Die Diffusionskonstanten von CO_2 in 30-33 g %igen Hämoglobinlösungen sind in Tabelle 3 wiedergegeben. Die Werte wurden aus dem CO_2-Durchtritt bei cá. 1 atm. CO_2-Partialdruckdifferenz ermittelt.

Nach den angegebenen Werten hat die Diffusionskonstante in 33 g %igen Hämoglobinlösungen rund 1/3 ihres Wertes in reinem Wasser. Wie bei den Messungen in Wasser liegen die Werte, die an 1 mm dicken filterfreien Schichten gewonnen wurden, höher als die Werte, die an getränkten Milliporefiltern gemessen wurden. Nach den obigen Erörterungen ist zu folgern, daß der Wert, der an filterfreien Schichten gemessen wurde, der wahren Diffusionskonstanten am nächsten kommt. Danach ist die CO_2-Diffusionskonstante bei 22°C in 33 g %iger Hämoglobinlösung $3{,}3 \times 10^{-4}$ cm^2 / (min × atm.).

Die Temperaturabhängigkeit der Diffusionskonstanten betrug wie in Wasser - 0,5%/°C. Die CO_2-Diffusionskonstante einer 33 g %igen Hämoglobinlösung wäre danach bei 38°C $3{,}0 \times 10^{-4}$ cm^2 / (min × atm.).

4. Die Abhängigkeit der CO_2-Diffusionskonstanten von der Hämoglobinkonzentration

Die Abhängigkeit der CO_2-Diffusionskonstanten von der Hämoglobinkonzentration ist in Abb. 2 dargestellt. Die Werte sind an getränkten Milliporefiltern gewonnen worden. Die Beziehung zwischen Hämoglobinkonzentration und CO_2-Diffusionskonstante ist in dem Bereich zwischen 10 g % und 40 g % Hämoglobin annähernd linear. Die CO_2-Diffusionskonstante nimmt in diesem Bereich um 10^{-5} cm^2 / (min × atm.) ab, wenn die Hämoglobinkonzentration um 1 g/100 ml zunimmt.

5. Der Einfluß der Erythrozytenmembran auf die CO_2-Diffusion

Zur Ermittlung des Einflusses der Erythrozytenmembran auf die CO_2-Diffusion wurde der CO_2-Durchtritt durch Erythrozytenschichten mit intakten Membranen bestimmt und mit dem CO_2-Durchtritt durch Hämoglobinlösungen verglichen, in welchen die Erythrozytenmembranen durch Saponin aufgelöst worden waren (s. Tab. 4). An filterfreien Schichten zentrifugierter Rindererythrozyten mit intakten Membranen ergab sich bei 22°C eine CO_2-Diffusionskonstante von $3{,}3 \times 10^{-4}$ cm^2 / (min × atm.). Eine Hämolyse der Erythrozyten konnte nach Versuchsende spektrophotometrisch nicht ermittelt werden. Der CO_2-Durchtritt durch Erythrozyten mit intakten Membranen ist demnach gleich dem CO_2-Durchtritt durch Zellen, deren Membranen durch Saponin zerstört sind. Nach diesem Ergebnis hat die Erythrozytenmembran unter den vorliegenden Versuchsbedingungen keinen verzögernden Einfluß auf die CO_2-Diffusion.

Ein ähnliches Ergebnis wurde an Schaf-Erythrozyten gewonnen. An Schichten von Schaf-Erythrozyten mit intakten Membranen wurde bei 22°C eine Diffusionskonstante von $3{,}40 \times 10^{-4}$ cm^2 / (min × atm.) gemessen. An Schichten von Schaf-Erythrozyten wird demnach der CO_2-Durchtritt durch die Zerstörung der Zellmembranen nur um etwa 3% erhöht.

In einer Suspension von angereicherten Erythrozytenmembranen und -stromata mit einer Trockenmasse von 27 g/100 ml wurde die CO_2-Diffusionskonstante zu $3{,}2 \times 10^{-4}$ cm^2 / (min × atm.) bestimmt. Dieser Wert ist gleich dem Wert der CO_2-Diffusionskonstanten in einer Hämoglobinlösung gleicher Trockenmasse.

6. Die erleichterte CO_2-Diffusion

Kurve A der Abb. 3 zeigt die CO_2-Diffusionskonstanten K_{CO_2} bei 22°C, die an mit hämolysierten Rindererythrozyten getränkten Filtern bei Randpartialdrucken von 10 und 50 Torr gemessen wurden. Diese Diffusionskonstanten liegen höher als diejenigen, die bei einer Partialdruckdifferenz von etwa 1 atm. gemessen wurden (Kurve C): bei einer Hämoglobinkonzentration von 33 g % ist die gemessene scheinbare Diffusionskonstante K_{CO_2} $3{,}98 \times 10^{-4}$ cm^2 / (min × atm.) (Zahl der Messungen n = 34, mittlerer Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ = 1,3%). Dieser Wert liegt um 56% höher als der bei hoher CO_2-Partialdruckdifferenz ermittelte Wert ($2{,}56 \times 10^{-4}$ cm^2 / (min × atm.)). Bei höheren und bei niedrigeren Hämoglobinkonzentrationen war die CO_2-Diffusionskonstante im niederen CO_2-Partialdruckbereich ebenfalls erhöht. Selbst bei einer

Hämoglobinkonzentration von 45 g % war noch eine Erhöhung der Diffusionskonstanten im niederen Partialdruckbereich nachweisbar.

Nach Zugabe des Carboanhydratase-Hemmers Acetazolamid(Diamox®) (0,2 bis 1,4 g %) fiel, wie Kurve B in Abb. 3 zeigt, die scheinbare Diffusionskonstante bei 33 g % Hämoglobin und Randpartialdrucken von 10 und 50 Torr auf $3{,}1 \times 10^{-4}$ cm^2 / (min × atm.) ($n = 13$, $s_{\bar{x}} = 1{,}6\%$). Durch Diamox wurde demnach die Erhöhung der Diffusionskonstanten auf 1/3 reduziert. Die Resterhöhung der Diffusionskonstanten blieb auch bei Steigerung der Diamox-Konzentration von 0,2 auf 1,4 g % konstant.

In Lösungen von zweifach umkristallisiertem Hämoglobin mit Milliporefiltern als Trägern wurde bei Zusatz von 0,39 g % Carboanhydratase im niederen CO_2-Partialdruckbereich annähernd die gleiche Erhöhung der CO_2-Diffusionskonstanten wie bei hämolysierten Rindererythrozyten festgestellt. Zu unserer Überraschung war in den Lösungen von zweifach umkristallisiertem Hämoglobin ohne Carboanhydratasezusatz die K_{CO_2}-Erhöhung fast so groß wie in den Lösungen, denen Carboanhydratase zugesetzt worden war. Dies mag auf geringe Carboanhydratase-Reste in dem Hämoglobinpräparat zurückzuführen sein, worauf der Umstand hindeutet, daß auf Zugabe von Diamox gleiche Werte für K_{CO_2} gemessen wurden wie bei hämolysierten, mit Diamox versetzten Erythrozyten (s. Abb. 3).

Bei 38°C war die scheinbare Diffusionskonstante noch stärker erhöht als bei 22°C. In Hämolysaten von Rindererythrozyten

mit Milliporefiltern als Trägern war bei einer Hämoglobinkonzentration von 29,6 g % und den erwähnten niedrigen CO_2-Partialdrucken $K_{CO_2} = 4{,}89 \times 10^{-4}$ cm^2 / (min × atm.) (n = 19, $s_{\bar{x}} = 1{,}6\%$).

Diskussion

1. Die freie Diffusion von CO_2 in Erythrozyten

Bemerkungen zur Methodik

Das Meßprinzip Die Diffusionskonstante der freien Diffusion von CO_2 in Erythrozyten wurde aus dem CO_2-Durchtritt berechnet, der bei Randpartialdrucken an der Schicht von 100 und 650 Torr gemessen wurde. Dieses Verfahren erscheint gerechtfertigt, weil der Diffusionsstrom in diesem Partialdruckbereich folgende Kennzeichen der freien Diffusion von CO_2 zeigte:

1. die auf Grund der Temperaturabhängigkeit der Diffusionskoeffizienten und der Löslichkeit zu erwartende negative Temperaturabhängigkeit der Diffusionskonstante von - 0,5% pro ^{o}C;
2. die Unabhängigkeit der Diffusionskonstanten von der Aktivität der Carboanhydratase.

Der Einfluß der Milliporefilter auf die CO_2-Diffusion

Während die CO_2-Diffusionskonstanten in Wasser, die an filterfreien Schichten gemessen wurden, mit den Werten der Literatur gut übereinstimmen, liegen die an getränkten Millipore-filtern gemessenen Werte um 10 bis 30% unter den Vergleichswerten. Ähnliche Diskrepanzen hatten sich bei der Messung der Diffusionskoeffizienten von Hämoglobin in hochkonzentrierten Lösungen ergeben (MOLL, 1966). Diese Diskrepanz kann auf zwei verschiedene Weisen gedeutet werden:

1. Es ist möglich, daß der an getränkten Milliporefiltern gemessene Wert der richtige ist, während der Wert, der an filterfreien Schichten ermittelt wurde, auf Grund von Konvektionsvorgängen zu hoch bestimmt wurde. Dagegen spricht jedoch folgendes: STEFAN (1878), HÜFNER (1897) und TAMMANN und JESSEN (1929) arbeiteten an gefüllten Kapillarglasröhren bzw. Hydrophanplatten bzw. an Agarschichten, wo Konvektion ausgeschlossen ist. Unsere an filterfreien Schichten ermittelten Werte stimmen mit den Meßwerten dieser Autoren gut überein. Demnach scheint bei unseren Messungen an filterfreien Schichten keine Störung der Diffusionsmessung durch Konvektionsvorgänge erfolgt zu sein.
2. Folgende Deutung erscheint uns daher wahrscheinlicher: In Milliporefiltern kann der Diffusionsweg für die Gase durch Schlängelung der Porenkanäle verlängert sein. Die Durchtrittsfläche kann durch lokale Porenengen reduziert sein. Beides wird den CO_2-Durchtritt durch die Poren verlangsamen und dadurch zu einem Wert für die Diffusionskonstante führen, welcher unter dem wahren liegt. Die Messungen an filterfreien Schichten werden danach zu richtigen Werten führen, während die Messungen an getränkten Filtern zu niedrige Werte liefern.

Schlußfolgerungen aus den Messungen der freien Diffusion

Der Einfluß des intraerythrozytären Hämoglobins auf die CO_2-Diffusion ist nach den vorliegenden Ergebnissen etwa gleich dem Einfluß auf die O_2-Diffusion: nach den Messungen von

LONGMUIR und ROUGHTON (1952) sowie GROTE und THEWS (1962) werden die Diffusionskonstanten von O_2 und N_2 durch Hämoglobin in der Konzentration von 33 g % auf 1/3 ihres Wertes in reinem Wasser gesenkt; nach unseren Messungen wird die CO_2-Diffusionskonstante in demselben Maße verringert (s. Tab. 5).

Die Erniedrigung der Diffusionskonstanten dieser Gase läßt sich grob aus der Veränderung der Geometrie des intracellulären Wasserraumes durch das Hämoglobin erklären. Bei einer Konzentration von 33 g/100 ml wird durch das intracelluläre Hämoglobin das harmonische Mittel der für die Diffusion zur Verfügung stehenden Querschnittsflächen des Wasserraumes auf etwa 37% vermindert, was eine Senkung der Diffusionskonstanten auf 1/3 erklärt.

Die von anderen Autoren gemessenen CO_2-Diffusionskonstanten in Gehirn, glattem Muskel, quergestreiftem Muskel und Bindegewebe sind mit der von uns ermittelten CO_2-Diffusionskonstanten in Erythrozyten zusammengestellt (Tabelle 6). Der Vergleich zeigt, daß die CO_2-Diffusionskonstante in den Erythrozyten niedriger liegt als im Gehirn und im Muskelgewebe und etwa mit jener im Bindegewebe übereinstimmt. Das steht im Einklang mit der Anschauung, daß die CO_2-Diffusion wesentlich von der Konzentration der großmolekularen Eiweißkörper bestimmt wird (SIESJÖ und THEWS, 1962).

Die Kenntnis der CO_2-Diffusionskonstanten in den Erythrozyten läßt es zu, den Zeitbedarf der CO_2-Diffusion in den Erythrozyten mit der Kontaktzeit zwischen Alveolargas und Lungen-

kapillarblut zu vergleichen. Nach unseren Messungen limitiert die CO_2-Diffusion im Erythrozyten die CO_2-Abgabe der Erythrozyten in der Lunge nicht. Folgende Überlegungen zeigen das:

Der Zeitbedarf der CO_2-Diffusion bei der CO_2-Abgabe der Erythrozyten ist gleich dem Zeitbedarf der CO_2-Abgabe bei Annahme eines unendlich schnellen Ablaufs der anderen beteiligten Vorgänge (HCO_3^- - Cl^--Austausch an der Erythrozytenmembran, Assoziation von H^+ und HCO_3^-, Dehydratation von H_2CO_3). Wie THEWS (1960) bei der O_2-Aufnahme von Hämoglobinlösungen gezeigt hat, kann ein solcher Diffusions-Reaktions-Vorgang als einfacher Diffusionsprozess behandelt werden, wenn an die Stelle des Diffusionskoeffizienten D ein konstantes Verhältnis $D' = \frac{K}{\alpha'}$, eingesetzt werden kann. Die effektive Löslichkeit α' nach THEWS (1960) ist definiert als die Änderung der Gesamtkonzentration des betrachteten Gases pro Partialdruckänderung. Die effektive Löslichkeit von CO_2 beträgt in den Erythrozyten im physiologischen Bereich 0,01 pro Torr, d.i. 7,6/atm. $D' = \frac{K}{\alpha'}$, hat dann den Wert $4{,}0 \times 10^{-5}$ cm^2/min. Betrachtet man den Erythrozyten vereinfachend als planparallele Platte, so kann der Zeitbedarf der CO_2-Diffusion aus dem Erythrozyten berechnet werden:

Nach einer plötzlichen Senkung des Umgebungspartialdruckes auf einen neuen, fortan konstanten Wert ist die Diffusion aus einer planparallelen Platte zu 95% abge-

schlossen, wenn die Größe $D' \times t / d^2$ den Wert 1,1 hat (s. CRANK, 1957, Abb. 4.3). Hierbei ist d die halbe Dicke der planparallelen Schicht, t die Zeit nach Einstellung des neuen Umgebungspartialdruckes. Die Zeit für eine 95%ige Entsättigung einer 1,6 µ dicken Platte, deren Diffusionszeiten den Diffusionszeiten des Erythrozyten etwa entsprechen (s. FORSTER, 1964), beträgt demnach 12 msec. Nach MIYAMOTO (1969) nimmt man für den Erythrozyten in der Kapillare besser eine Kugelform mit dem Radius 2,5 µ an. Eine Kugel hat nach einem Sprung des Randpartialdruckes 95% der Konzentrationsänderung durchlaufen, wenn der Ausdruck $\frac{D' \times t}{r^2}$ den Wert 0,6 erreicht hat, wobei r der Radius der betrachteten Kugel ist (s. CRANK, 1957, Abb. 6.2). Danach wäre der Diffusionsvorgang im Erythrozyten nach 34 msec. zu 95% abgeschlossen.

Bei einer Gesamtkontaktzeit des Kapillarblutes mit dem alveolaren Gas von etwa 800 msec. (ROUGHTON, 1945) spielen beide errechneten Diffusionszeiten keine Rolle. Es ist jedoch möglich, daß in extrem kurzen Alveolarkapillaren Kontaktzeiten von weniger als 30 msec. auftreten. In diesen Kapillaren könnte eine Limitierung der CO_2-Abgabe in die Alveolen auf Grund des Zeitbedarfes der CO_2-Diffusion in den Erythrozyten gegeben sein.

2. Der Einfluß der Erythrozytenmembran auf die CO_2-Diffusion

Nach den vorliegenden Messungen bewirkt die Zerstörung der

Erythrozytenmembran durch Saponin in den Präparaten eine Erhöhung der CO_2-Diffusionskonstanten um nur 0-3%. Die Erythrozytenmembranen stellen demnach einen verhältnismäßig kleinen Diffusionswiderstand dar. Dieser Befund erscheint für die Theorie des Gasaustausches der Erythrozyten aus folgendem Grunde wichtig: Die initiale O_2- und CO_2-Aufnahme der Erythrozyten in Mischkammern verläuft 2-3 mal langsamer, als auf Grund der PONDER'schen Angaben über die morphologischen Dimensionen der Erythrozyten (PONDER, 1948) mit den bekannten Diffusionskonstanten und Reaktionskonstanten berechnet worden ist (s. FORSTER, 1964). Zur Erklärung dieser Diskrepanz zwischen den experimentell ermittelten und theoretisch postulierten Aufsättigungsgeschwindigkeiten wurde unter anderem angenommen, daß die relative Gas-Permeabilität λ † der Erythrozytenmembranen nur 1,5 sei.

Das Verhältnis Q aus dem CO_2-Durchtritt durch eine membranhaltige Schicht und dem CO_2-Durchtritt durch eine membranfreie Schicht ist durch folgende Gleichung bestimmt:

$$Q = \frac{\lambda}{1 + \lambda} \qquad \ldots \quad (9)$$

Hieraus wäre zu fordern, daß der CO_2-Durchtritt durch eine Erythrozytenschicht mit intakten Membranen bei $\lambda = 1{,}5$ etwa

---

† λ ist nach NICOLSON und ROUGHTON (1951) wie folgt definiert:

$$\lambda = \frac{K_m}{d_m} \Big/ \frac{K_E}{d_E / 2} \qquad \ldots \quad (8)$$

wobei K_m und K_E die Diffusionskonstanten in der Membran bzw. im Erythrozyteninneren, d_m und d_E die Dicke der Membran bzw. des Erythrozyteninneren ist. λ stellt das Verhältnis der Durchlässigkeit der Erythrozytenmembran zur Durchlässigkeit des Erythrozyteninneren bei stationärem Diffusionsstrom dar.

40% kleiner wäre als der CO_2-Durchtritt durch Erythrozytenschichten, deren Membranen zerstört sind. Dies ist jedoch nicht der Fall. Allerdings erfordert die obige Abschätzung bei genauerer Betrachtung eine geringfügige Korrektur. Man muß in Rechnung ziehen, daß der Diffusionsweg der Gase in den Erythrozyten beim Gasaustausch in einer Mischkammer (s. Abb. 4a) anders verläuft als der Diffusionsweg bei stationärer Diffusion durch eine Schicht zentrifugierter Zellen (s. Abb. 4b), wo die Erythrozyten in statistisch gleich verteilter Richtung zu den Partialdruckgradienten liegen.

Nach TOMKEIEFF (1945) und HENNIG (1956) ist die mittlere Abschnittslänge ΔL einer beliebig durch eine Zellschicht gerichteten Geraden:

$$\text{mittlere Abschnittslänge} = 4 \times \frac{\text{Zellvolumen}}{\text{Zelloberfläche}} \quad \ldots (10)$$

In einem Erythrozytenzentrifugat ist das Volumen-Oberflächenverhältnis 86 / 163 = $0{,}5\mu^3 / \mu^2$. Die mittlere Abschnittslänge, welche den mittleren Diffusionsweg durch einen Erythrozyten darstellt, ist danach:

$$\Delta L = 2\ \mu$$

Der Diffusionsweg im Erythrozyten ist demnach bei der stationären Diffusion durch eine Erythrozytenschicht 25% länger als beim Gasaustausch in Mischkammern. Die relative Membranpermeabilität ist dann 25% höher zu veranschlagen, d.h. sie beträgt 2,0 statt 1,5. Die Zerstörung der Membran muß dann die Diffusion um 30% erhöhen. Dies ist jedoch mit Sicherheit nicht der Fall.

Unsere Ergebnisse sprechen demnach gegen die Anschauung, daß die Erythrozytenmembran die Aufnahme und Abgabe von Gasen wesentlich beeinflußt. Diese Schlußfolgerung steht im Einklang mit Schlußfolgerungen von KREUZER und YAHR (1960) aus den vergleichenden Untersuchungen der Sauerstoffaufnahme von Erythrozytenschichten und Schichten von Hämoglobinlösungen.

Eindeutig zeigen auch die Messungen an Suspensionen von Erythrozytenstromata und -membranen, daß das Material der Membran keinen ungewöhnlich hohen Diffusionswiderstand aufweist. Die Membranen und Stromata haben in den Rindererythrozyten eine Konzentration von 1,3 g/100 ml (s. PONDER, 1948). In den Suspensionen, deren Trockengewicht 27 g/100 ml betrug, waren die Erythrozytenmembranen und -stromata auf ungefähr das 20-fache angereichert. Trotz dieser Anreicherung war die CO_2-Diffusionskonstante in diesen Suspensionen ungefähr gleich der Diffusionskonstanten in einer Hämoglobinlösung mit demselben Trockengewicht.

3. Die erleichterte CO_2-Diffusion

In dem CO_2-Partialdruckbereich von 10-50 Torr ist die CO_2-Diffusionskonstante in konzentrierten Hämoglobinlösungen etwa 60% höher als in dem Bereich zwischen 100 und 650 Torr CO_2-Partialdruck. Offensichtlich wird die CO_2-Diffusion in diesem niedrigen Partialdruckbereich gefördert, d.h. es liegt neben der freien Diffusion eine weitere Art des CO_2-Transportes vor.

Diese Ergebnisse ergänzen die bisherigen Kenntnisse über das Vorkommen der erleichterten CO_2-Diffusion: es ist schon bekannt, daß in carboanhydratasehaltigen Bicarbonatlösungen (ENNS, 1967) und in verdünnten Hämoglobinlösungen (LONGMUIR et al., 1966) eine erleichterte CO_2-Diffusion auftritt. Unsere Ergebnisse zeigen, daß die erleichterte CO_2-Diffusion auch bei der Hämoglobin-Konzentration der Erythrozyten nachweisbar ist.

Die physiologische Bedeutung der erleichterten CO_2-Diffusion

Die physiologische Bedeutung der erleichterten CO_2-Diffusion ist davon abhängig, welchen Anteil der Zeitbedarf der CO_2-Diffusion am gesamten Zeitbedarf der CO_2-Abgabe des Blutes hat und ob die Kontaktzeit des Kapillarblutes mit dem Alveolargas einen vollständigen CO_2-Partialdruckangleich erlaubt. Wie oben dargestellt wurde, ist das letztere der Fall, wenn es zutrifft, daß die Kontaktzeit, wie aus der CO-Aufnahme ermittelt wurde, 800 msec. beträgt.

Danach ist also das Phänomen der erleichterten CO_2-Diffusion für den Gasaustausch in der Lunge kaum von Bedeutung. Wohl könnte jedoch der zugrunde liegende Mechanismus des H^+-Transportes bei anderen H^+-Transportvorgängen in den Zellen eine Bedeutung haben. Dieser Mechanismus soll daher im folgenden diskutiert werden.

Der Mechanismus der erleichterten CO_2-Diffusion

Die geförderte CO_2-Diffusion ist in einem CO_2-Partialdruckbereich nachweisbar, in welchem CO_2-Partialdruckgradienten

mit relativ hohen Gradienten des chemisch gebundenen CO_2 einhergehen: das zeigt Abb. 5, worin die Konzentrationen des gelösten und des gebundenen CO_2 in zentrifugierten Erythrozyten in Abhängigkeit von dem CO_2-Partialdruck bei 22°C angegeben sind. Die CO_2-Partialdruckbereiche, in welchen die Messungen durchgeführt wurden, sind durch U bzw. O gekennzeichnet. Wie Abb. 5 zeigt, ist der Anstieg der Konzentration des gebundenen CO_2 pro Partialdruckanstieg in den unteren Bereichen, in welchen die geförderte Diffusion gemessen wurde, durchschnittlich etwa 10 mal größer als in dem Bereich hoher CO_2-Partialdrucke, in welchem keine geförderte CO_2-Diffusion nachweisbar war.

Die Vermutung liegt also nahe, daß der geförderten CO_2-Diffusion eine Diffusion gebundenen Kohlendioxids zugrunde liegt. Bei diesem Mechanismus würde sich der Flux, worunter wir die erleichterte CO_2-Diffusion pro Fläche verstehen, aus der Konzentrationsdifferenz (bzw. Aktivitätsdifferenz) des gebundenen CO_2, Δc, dem Diffusionskoeffizienten des gebundenen CO_2, D^+, sowie der Dicke der Schicht, d, ergeben. In Analogie zu der geförderten O_2-Diffusion (s. FATT und COLEY, 1961) gilt für die erleichterte CO_2-Diffusion

$$\text{Flux } F = \frac{\Delta c \times D^+}{d} \qquad \ldots (11)$$

Anhand dieser Beziehung läßt sich die Frage diskutieren, ob die Diffusion einer bestimmten Form gebundenen Kohlendioxids die gemessene geförderte CO_2-Diffusion erklärt. Geht die er-

leichterte CO_2-Diffusion auf die Diffusion einer speziellen Form von gebundenem CO_2 zurück, so muß der gemessene Flux gleich dem Flux sein, der sich nach Gl. (11) aus der Konzentrationsdifferenz und dem Diffusionskoeffizienten dieser CO_2-Form ergibt. Die gemessenen Fluxe sind in Tabelle 7 angegeben. Diese Fluxe wurden aus dem gesamten CO_2-Durchtritt, $\dot{V}_{CO_2}$, aus der Partialdruckdifferenz, ΔP_{CO_2}, der im hohen Partialdruckbereich gemessenen Diffusionskonstanten, K_{CO_2}, der Schichtdicke d und der Durchtrittsfläche F nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Flux } F = \frac{\dot{V}_{CO_2}}{F} = \frac{K_{CO_2} \times \Delta P_{CO_2}}{d} \qquad \ldots \quad (12)$$

CO_2 wird in 2 Formen im Erythrozyten gebunden: als Carbamino-Hämoglobin und als Bicarbonat. Die Carbamino - Hämoglobin - diffusion sowie die Diffusion von Bicarbonat müssen somit als mögliche Mechanismen der geförderten CO_2-Diffusion in Betracht gezogen werden. Diese beiden Mechanismen sollen im folgenden diskutiert werden:

1. Die erleichterte CO_2-Diffusion durch Carbamino-Hämoglobin-Diffusion

Eine erleichterte CO_2-Diffusion kommt zustande, wenn CO_2 an der einen Schichtseite als Carbamino-Hämoglobin gebunden wird, in dieser Form durch die Schicht hindurchdiffundiert und an der anderen Schichtseite wieder freigesetzt wird. Die Hemmbarkeit des Transportes durch Azetazolamid zeigt, daß

der Großteil des Transportes die Hydratation von CO_2 zu H_2CO_3 voraussetzt, also keine Carbaminohämoglobinbildung einschließt. Es wäre aber denkbar, daß die Carbaminohämoglobin-Diffusion dem von Azetazolamid unabhängigen Transport zugrunde liegt. Die Carbaminohämoglobin-Diffusion soll deswegen nach Gl. (11) aus der Schichtdicke, dem Diffusionskoeffizienten und den Konzentrationsdifferenzen des Carbaminohämoglobins abgeschätzt werden.

Die Schichtdicke war bei den Versuchen 150 µ. Für den Diffusionskoeffizienten von Carbaminohämoglobin kann jener von Hämoglobin ($1 \times 10^{-7} \frac{cm^2}{sec} = 6 \times 10^{-6} \frac{cm^2}{min}$ in 30 g%iger Hämoglobinlösung nach MOLL, 1966) eingesetzt werden. Bei den Messungen lag eine CO_2-Partialdruckdifferenz von 40 Torr vor. Aus den Werten von FERGUSON (1936) läßt sich abschätzen, daß die Konzentrationsdifferenz des Carbaminohämoglobins $\Delta C\ HbCO_2 = 10^{-6}\ mol/cm^3$ war. Aus diesen Werten ergibt sich folgender Flux:

$$F = \frac{D_{Hb} \times \Delta C_{HbCO_2}}{d} \qquad \ldots \quad (13)$$

$$= \frac{6 \times 10^{-6} \times 10^{-6}}{1{,}5 \times 10^{-2}} = 4 \times 10^{-10} \quad \frac{mol}{cm^2 \times min}$$

Dieser Wert beträgt nur wenige Prozent des von Azetazolamid unabhängigen Transportes. Daraus muß der Schluß gezogen werden: auch die azetazolamidunabhängige erleichterte CO_2-Diffusion kann nicht auf eine Diffusion von Carbaminohämoglobin zurückgeführt werden.

2. Die erleichterte CO_2-Diffusion durch Bicarbonatdiffusion und H-Ionen-Transport

Eine geförderte CO_2-Diffusion erfolgt, wenn die auf der einen Schichtseite aus CO_2 entstehenden HCO_3^--Ionen zusammen mit den H^+-Ionen durch die Schicht hindurchdiffundieren und auf der anderen Schichtseite wieder CO_2 bilden. Im folgenden sollen die auf Grund der physikalisch-chemischen Bedingungen zu erwartenden Fluxe berechnet werden. Zur Vereinfachung sollen hierbei zunächst der HCO_3^--Transport und H^+-Transport getrennt betrachtet werden. Im Anschluß daran sollen die Wechselwirkungen zwischen beiden Transportvorgängen diskutiert werden.

Die HCO_3^--Diffusion macht nach der von Gl. (11) beschriebenen Beziehung zwischen der erleichterten CO_2-Diffusion und ihren Parametern ein Vielfaches des beobachteten Transportes aus:

Aus der CO_2-Bindungskurve (Abb. 5) und den CO_2-Randpartialdrucken ergibt sich die HCO_3^--Konzentrationsdifferenz ($1{,}1 \times 10^{-5}$ mol/cm^3). Die für die Ionen-Diffusion entscheidende Differenz der Aktivitäten ($0{,}8 \times 10^{-5}$ mol/cm^3) kann aus der Konzentrationsdifferenz und der Ionen-Stärke berechnet werden. Der Diffusionskoeffizient von Bicarbonat in Wasser ergibt sich aus der Äquivalentleitfähigkeit $\lambda_{HCO_3^-}$ ($2{,}7 \times 10^3$ cm^2/ohm/val nach d'ANS und LAX, 1949) nach folgender bekannter Beziehung:

$$D_{HCO_3} = \frac{RT}{F^2} \times \lambda_{HCO_3^-} = \frac{8{,}31 \times 295}{(9{,}65 \times 10^4)^2} \times 2{,}7 \times 10^3 \quad \ldots (14)$$

$$= 7{,}1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{min}$$

wobei R die allgemeine Gaskonstante, T die absolute Temperatur und F die Faraday-Konstante ist. Wir nehmen an, daß das Hämoglobin die HCO_3^--Diffusion in gleichem Maße verzögert wie die Diffusion von CO_2 und O_2 und setzen 1/3 dieses Wertes ($2{,}4 \times 10^{-4}$ cm^2/min) für den HCO_3^--Diffusionskoeffizienten in 30 g%iger Hämoglobinlösung ein. Aus den Differenzen der Aktivitäten, dem Diffusionskoeffizienten von Bicarbonat und der Schichtdicke ($1{,}5 \times 10^{-2}$ cm) ergibt sich schließlich nach Gl. (11) für den Fall, daß die HCO_3^--Diffusion vom H-Ionen-Transport unabhängig ist, ein Flux von 13×10^{-8} mol / ($cm^2 \times$ min).

Nach diesen Berechnungen ist der unter den genannten Bedingungen zu erwartende HCO_3^--Flux etwa 6 mal höher als die experimentell beobachtete erleichterte Diffusion. Einen qualitativ gleichen Befund erhoben LONGMUIR, FORSTER und WOO (1966) an verdünnten Hämoglobinlösungen.

Welcher Vorgang limitiert die erleichterte Diffusion durch Bicarbonatdiffusion? Nicht die Hydratationsgeschwindigkeit des CO_2, da eine Steigerung der Hydratationsgeschwindigkeit durch Verdopplung der Carboanhydratasekonzentration ohne Wirkung auf den CO_2-Durchtritt war. LONGMUIR, FORSTER und WOO (1966) vermuteten, daß der zweite für die erleichterte CO_2-Diffusion erforderliche Transportvorgang, der H-Ionen-Transport, die Transportgröße von CO_2 limitiert. Überschlägige Berechnungen des H-Ionen-Transportes bestätigen das.

Die freie Diffusion von H-Ionen beträgt nur ein Tausendstel des beobachteten Fluxes, da in einer konzentrierten Hämoglobinlösung, welche einen Puffer hoher Kapazität darstellt, bei den verwandten CO_2-Partialdruckdifferenzen nur minimale H-Ionen-Konzentrationsunterschiede auftreten. pH-Messungen an Lösungen von 33 g%igem Hämoglobin (s.S. 8), die nach dem gleichen Verfahren wie die zur Diffusionsmessung verwandten Hämoglobinlösungen präpariert wurden, ergaben, daß bei den herrschenden CO_2-Partialdrucken H^+-Aktivitätsdifferenzen von nur etwa 3×10^{-11} mol/cm^3 auftreten. Bei einem H-Ionen-Diffusionskoeffizienten von 2×10^{-3} cm^2/min (1/3 des Wertes in Wasser, der aus der Ionenbeweglichkeit (LANDOLT-BÖRNSTEIN, 1960) berechnet wurde), ergibt sich ein Flux von ungefähr 4×10^{-12} mol/(cm^2 × min). Dieser Flux macht weniger als ein Tausendstel des beobachteten Fluxes aus. Auch wenn man eine Beschleunigung des H-Ionen-Transportes durch ein Diffusionspotential des Bicarbonats in Rechnung zieht, ergibt sich kein Flux, der in die Größenordnung des beobachteten Fluxes kommt.

Eine wichtige Rolle fällt offensichtlich dem H-Ionen-Transport durch Hämoglobin-Diffusion zu. In einer Hämoglobinlösung liegt bei einem gegebenen Konzentrationsgradienten von freien H-Ionen ein vielfach höherer Konzentrationsgradient für gepufferte H-Ionen vor. Die Diffusion von Hämoglobin mit abgepufferten H-Ionen führt zu einem Flux, der sich aus dem Diffusionskoeffizienten des Hämoglobins bei einer Hämoglobinkonzentration von 30 g %, 6×10^{-6} cm^2/min (MOLL, 1966), und

der im Versuch vorliegenden Konzentrationsdifferenz für gepufferte H-Ionen ($1{,}1 \times 10^{-5}$ mol/cm^3 bei 22°C) zu 4×10^{-9} mol/(cm^2 × min) ergibt. Dieser Wert beträgt etwa 20% des beobachteten Transportes.

Die obige Abschätzung ist durch folgende Unsicherheiten belastet:

1. Die Konzentrationsgradienten der HCO_3-Ionen in der Schicht führen zu Diffusionspotentialen, die den Transport der Hämoglobinmoleküle beschleunigen.
2. Ein partieller Konzentrationsausgleich von HCO_3^- zwischen beiden Schichtseiten wird erfolgen. Hierdurch wird die pH-Differenz zwischen beiden Schichtseiten und der Konzentrationsgradient für gepufferte H-Ionen erhöht.

Beide Vorgänge erhöhen den H^+-Transport. Die obige Abschätzung der erleichterten CO_2-Diffusion liefert demnach einen etwas zu kleinen Wert. Trotzdem erscheint es unwahrscheinlich, daß die beobachtete erleichterte CO_2-Diffusion allein durch Hb-Diffusion erklärbar ist.

Es liegt nahe, nach weiteren Möglichkeiten des H-Ionen-Transportes zu suchen. Solche Möglichkeiten bestehen. H-Ionen werden im Wasser durch Rotation und Oszillation der Wassermoleküle transportiert (EIGEN, 1958). Es ist vorstellbar, daß auch die Oszillation und die Rotation der Hämoglobin-Moleküle zu einem H-Ionen-Transport führen. Die Hämoglobin-Moleküle würden nach dieser Vorstellung H-Ionen an der Stelle höherer H-Ionen-Konzentration assoziieren, durch Rotation bzw. Oszil-

lation an eine Stelle geringerer H-Ionen-Konzentration transportieren und dort dissoziieren. Diese dissoziierten Ionen würden dann von dem benachbarten Hämoglobin aufgenommen und weiter transportiert. Ein solcher Mechanismus wurde schon im Zusammenhang mit der erleichterten Diffusion von Sauerstoff diskutiert (MOLL, 1962). Wie WYMAN (1966) jedoch zeigte, ist der hierbei zustande kommende O_2-Transport gering, weil die Assoziations- und Dissoziationsgeschwindigkeit von Sauerstoff und Hämoglobin den Transportvorgang limitiert.

Anders ist die Sachlage bei dem H-Ionen-Transport. Die H-Ionen-Assoziation ist ungefähr eine Million mal schneller (EIGEN and De MAEYER, 1955) als die Sauerstoff-Assoziation; durch Rotation und Oszillation der Hämoglobinmoleküle kann bei ausreichender Geschwindigkeit dieser Phänomene ein H-Ionen-Transport zustande kommen, der das 7-fache der freien Diffusion der H-Ionen ausmacht.

In Analogie zu dem Sauerstofftransport durch Hämoglobin-Rotation ergibt sich der H-Ionen-Transport pro Fläche, der Flux, zu

$$F = \frac{r^2 \times k' \times C_{Hb} \times \alpha \times n}{2 \times (1 + (\frac{k' \times K}{\omega})^2)\, d} \times \Delta\,(H^+) \qquad \ldots \quad (15)$$

wobei $\Delta(H^+)$ die H-Ionen-Aktivitätsdifferenz zwischen den Schichträndern, r der Molekül-Radius des Hämoglobins (3×10^{-7} cm nach PERUTZ, 1948), k' die Geschwindigkeitskonstante der Assoziation (6×10^{15} $cm^3/(mol \times min)$ nach EIGEN und De MAEYER, 1955), C_{Hb} die Konzentration des

Tetramers Hämoglobin (5×10^{-6} mol/cm^3) und α der Dissoziationsgrad der gepufferten Gruppen ist. Wenn die aktuelle H-Konzentration gleich der Dissoziationskonstante ist, beträgt α beispielsweise 1/2. ω ist die Rotationsgeschwindigkeit der Hb-Moleküle, d ist die Dicke der Schicht, durch die die Diffusion erfolgt ($150\ \mu = 1{,}5 \times 10^{-2}$ cm), n ist die Zahl der puffernden Gruppen am Hämoglobin. Das Hämoglobin verhält sich im physiologischen Partialdruckbereich etwa so, als ob es 20 puffernde Gruppen pro Tetramer besäße, deren Dissoziationskonstante gleich der aktuellen H-Ionen-Konzentration ist (RUCH und PATTON, 1965, S. 907). Der gesamte Flux wäre demnach bei unendlicher Rotationsgeschwindigkeit:

$$F = \frac{3^2 \times 10^{-14} \times 6 \times 10^{15} \times 5 \times 10^{-6} \times 0{,}5 \times 20 \times 3 \times 10^{-11}}{2 \times 1{,}5 \times 10^{-2}}$$

$$= 3 \times 10^{-11} \text{ mol}/(\text{cm}^2 \times \text{min}).$$

Dieser Wert ist etwa 7 mal so groß wie der Wert für die freie Diffusion bei der vorliegenden H-Ionen-Konzentrationsdifferenz; er beträgt aber immer noch weniger als 1% des gemessenen CO_2-Transportes. Ein H-Ionen-Transport viel größeren Ausmaßes würde sich ergeben, wenn die H-Ionen bei der Rotation direkt von einem Hämoglobin-Molekül zum anderen springen. In diesem Fall ist in Gl. (15) für $\Delta(H^+)$ die Konzentrationsdifferenz der gepufferten H-Ionen einzusetzen. Hierbei könnten Fluxe entstehen, die in der Größenordnung des beobachteten Fluxes liegen. In wieweit

allerdings diese Form des H-Ionen-Transportes oder eine andere in einer Hämoglobinlösung verifiziert ist, können wir nicht sagen. Auf gesicherter Grundlage scheint allein der H-Ionen-Transport durch Hämoglobindiffusion zu stehen. Somit kann die beobachtete erleichterte CO_2-Diffusion zwar teilweise auf eine gleichzeitige Bicarbonat- und Hämoglobin-Diffusion zurückgeführt werden, worauf aber der übrige Teil des beobachteten Transportes zurückgeht, wissen wir noch nicht.

Zusammenfassung

Aus dem stationären CO_2-Durchtritt durch Schichten definierter Dicke wurde die CO_2-Diffusionskonstante in Wasser, in Hämoglobin-Lösungen unterschiedlicher Hämoglobin-Konzentration und in Erythrozyten bestimmt.

An filterfreien Wasserschichten wurde die CO_2-Diffusionskonstante zu $8{,}5 \times 10^{-4}$ $cm^2/(min \times atm.)$ bei 22^oC ermittelt. An mit Wasser getränkten Milliporefiltern ergab sich für die CO_2-Diffusionskonstante ein Wert von $7{,}3 \times 10^{-4}$ $cm^2/(min \times atm.)$. Der Temperaturkoeffizient der CO_2-Diffusionskonstanten betrug - 0,5%/^oC.

Die CO_2-Diffusionskonstante in 33 g%iger, stromahaltiger Hämoglobin-Lösung wurde bei Randpartialdrucken zwischen 100 und 650 Torr zu $3{,}3 \times 10^{-4}$ $cm^2/(min \times atm.)$ bei 22^oC ermittelt. Dieser Wert ist etwa 1/3 der Diffusionskonstanten von CO_2 in Wasser bei 22^oC. Die Beziehung zwischen der CO_2-Diffusionskonstanten und der Hämoglobin-Konzentration war in dem Konzentrationsbereich von 10-40 g% annähernd linear; bei einer Zunahme der Hämoglobin-Konzentration um 1 g% fiel die CO_2-Diffusionskonstante um 3% ihres Wertes bei 33 g%. Der Temperaturkoeffizient der CO_2-Diffusionskonstanten betrug ebenfalls - 0,5%/^oC.

Zur Bestimmung des Diffusionswiderstandes der Erythrozytenmembranen wurde die CO_2-Diffusionskonstante in Schichten zentrifugierter Erythrozyten gemessen. Die CO_2-Diffusions-

konstante in den Erythrozytenschichten war nur um 0-3% kleiner als in Hämoglobinlösungen gleicher Hämoglobinkonzentration. In Suspensionen von Erythrozytenmembranen mit einem Trockengewicht von 27 g/100 ml war die Diffusionskonstante etwa gleich der einer Hämoglobinlösung gleichen Trockengewichtes. Nach diesen Messungen hat die Erythrozytenmembran einen zu vernachlässigenden Einfluß auf die CO_2-Diffusion.

In dem CO_2-Partialdruckbereich zwischen 10 und 50 Torr war die Diffusionskonstante um 60% höher als in dem Bereich zwischen 100 und 650 Torr. Im niedrigen Partialdruckbereich liegt demnach neben der freien eine erleichterte CO_2-Diffusion vor. Die erleichterte CO_2-Diffusion war in dem ganzen untersuchten Hämoglobin-Konzentrationsbereich (4 - 40 g%) nachweisbar; sie konnte durch den Carboanhydratase-Hemmer Azetazolamid weitgehend unterdrückt werden.

Die möglichen Mechanismen der erleichterten CO_2-Diffusion werden diskutiert. Hierbei ergibt sich, daß die beobachtete erleichterte CO_2-Diffusion teilweise mit der gleichzeitigen Bicarbonat-Diffusion und Hämoglobin-Diffusion, welche zu einem H-Ionen-Transport führt, erklärt werden kann.

Tabelle 1

K ($cm^2/(min \times atm.)$)	D (cm^2/s)	Literatur
$8{,}50 \times 10^{-4}$ (filterfreie Schicht)	$1{,}71 \times 10^{-5}$	diese Arbeit
$7{,}30 \times 10^{-4}$ (getränktes Millipore-Filter)	$1{,}47 \times 10^{-5}$	diese Arbeit
$9{,}32 \times 10^{-4}$	$1{,}88 \times 10^{-5}$	STEFAN (1878)
$9{,}57 \times 10^{-4}$	$1{,}92 \times 10^{-5}$	HÜFNER (1897)
$8{,}15 \times 10^{-4}$	$1{,}64 \times 10^{-5}$	HAGENBACH (1898)
$8{,}08 \times 10^{-4}$	$1{,}63 \times 10^{-5}$	TAMMANN und JESSEN (1929)
$8{,}46 \times 10^{-4}$	$1{,}70 \times 10^{-5}$	RINGBOM (1938)
$8{,}51 \times 10^{-4}$	$1{,}71 \times 10^{-5}$	DAVIDSON and CULLEN (1957)
$9{,}05 \times 10^{-4}$	$1{,}82 \times 10^{-5}$	NIJSING (1959)
$8{,}36 \times 10^{-4}$	$1{,}68 \times 10^{-5}$	TANG und HIMMELBLAU (1963)
$8{,}92 \times 10^{-4}$	$1{,}79 \times 10^{-5}$	REHM, MOLL and BABB (1963)
$8{,}60 \times 10^{-4}$	$1{,}73 \times 10^{-5}$	UNVER und HIMMELBLAU (1964)

Tab. 1: CO_2-Diffusionskonstanten, K, in $cm^2/(min \times atm.)$ in Wasser bei 22°C nach Messungen an filterfreien Schichten und an mit Wasser getränkten Millipore-Filtern. Die Diffusionskoeffizienten, D, in cm^2/s wurden aus K und der Löslichkeit von CO_2 in Wasser (α = 0,829 $atm.^{-1}$, s. BARTELS et al., 1959) berechnet. Zum Vergleich sind Werte anderer Autoren aus einer Zusammenstellung von HIMMELBLAU (1964) entnommen. Diese Werte wurden mit dem Temperaturkoeffizienten - 0,5%/°C auf 22°C umgerechnet.

T a b e l l e 2

Material	K_{CO_2} (cm^2/(min × atm.))	$s_{\bar{x}}$	t
Silikonkautschuk †	$13{,}3 \times 10^{-4}$	1,4%	22°C
Silikonkautschuk †	$13{,}4 \times 10^{-4}$	1,4%	38°C
Teflon +	$0{,}12 \times 10^{-4}$		22°C

† Für die Überlassung von ca. 100 µ dicken Silikonmembranen danken wir der Firma C. Freudenberg, Weinheim.

+ Firma L. Eschweiler, Kiel

Tab. 2: Die CO_2-Diffusionskonstanten in Silikon und Teflon. Angegeben ist das Material, K_{CO_2}, der Mittelwert der Diffusionskonstanten in cm^2/(min × atm.), $s_{\bar{x}}$, der mittlere Fehler des Mittelwertes in Prozent des Mittelwertes und t, die Temperatur.

Tabelle 3

Untersuchungsmaterial	Diffusionskonstante (cm^2/(min × atm.)) $\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	n	Diffusionskoeffizient (cm^2/sec)	Hämoglobin-Konzentration (g/100 ml)	Temperatur (°C)	Schichtart
Hämolysierte Rindererythrozyten	$3{,}35 \times 10^{-4}$	0,5%	6	$8{,}6 \times 10^{-6}$	32,6	22°C	filterfreie Schicht
Hämolysierte Schaferythrozyten	$3{,}55 \times 10^{-4}$	0,2%	4	$9{,}0 \times 10^{-6}$	30,5	22°C	filterfreie Schicht
Hämolysierte Rindererythrozyten	$2{,}56 \times 10^{-4}$	0,7%	49	$6{,}6 \times 10^{-6}$	33,0	22°C	getränktes Millipore-Filter
Hämolysierte Rindererythrozyten	$2{,}84 \times 10^{-4}$	1,1%	15	$10{,}8 \times 10^{-6}$	28,1	38°C	getränktes Millipore-Filter
2 x kristallisiertes reinstes Hämoglobin	$2{,}42 \times 10^{-4}$	1,6%	9	$6{,}2 \times 10^{-6}$	31,3	22°C	getränktes Millipore-Filter

Tab. 3: Die CO_2-Diffusionskonstante K in cm^2/(min × atm.) in konzentrierten Hämoglobinlösungen. Angegeben sind das Untersuchungsmaterial, der Mittelwert $\bar{x}$, der mittlere Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$, die Zahl der Messungen n; aufgeführt sind zusätzlich die aus der Diffusionskonstanten und der Löslichkeit (van SLYKE et al., 1928) berechneten Diffusionskoeffizienten, die Hämoglobinkonzentration, die Temperatur und die Art der Schicht.

Tabelle 4

Untersuchungsmaterial	CO_2-Diffusionskonstante ($cm^2/(min \times atm.)$) $\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	n	Hämoglobin-Konzentration (g/100 ml)
Rindererythrozyten	$3,3 \times 10^{-4}$	1,4%	5	32,7 g %
Hämolysate von Rindererythrozyten	$3,34 \times 10^{-4}$			32,7 g %
Schaferythrozyten	$3,40 \times 10^{-4}$	0,7%	4	31,0 g %
Hämolysate von Schaferythrozyten	$3,50 \times 10^{-4}$			31,0 g %
Suspension von Erythrozytenmembranen	$3,2 \times 10^{-4}$			

Tab. 4: CO_2-Diffusionskonstante in Schichten zentrifugierter Erythrozyten und in Hämoglobinlösungen gleicher Hämoglobin-Konzentration. Mittelwert $\bar{x}$, mittlerer Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ und Zahl der Messungen n der CO_2-Diffusionskonstanten an Schichten zentrifugierter Erythrozyten von Rindern und Schafen, an Hämoglobinlösungen gleicher Hämoglobin-Konzentration und an Suspensionen von Erythrozytenmembranen mit einer Trockenmasse von 27 g/100 ml. Angegeben ist weiter die Hämoglobin-Konzentration des Untersuchungsmaterials. Die CO_2-Diffusionskonstanten der Hämoglobinlösungen wurden nach der oben angegebenen Beziehung zwischen CO_2-Diffusionskonstante und Hämoglobin-Konzentration aus den in Tab. 3 angegebenen Werten errechnet. Sämtliche Messungen wurden an filterfreien Schichten durchgeführt.

T a b e l l e 5

	$\frac{K \text{ in Hb-Lösung (33 g \%)}}{K \text{ in Wasser}}$	t (°C)	Autor
Sauerstoff	0,44 (Methämoglobin-Lösung) 0,34 (Erythrozyten)	20°C	GROTE und THEWS (1962)
Stickstoff	0,29 (Hämoglobin-Lösung)	20°C	LONGMUIR und ROUGHTON (1952)
Kohlendioxid	0,39 (filterfreie Schicht)	22°C	diese Arbeit
	0,35 (getränkte Millipore-Membran)	22°C	diese Arbeit

Tab. 5: Das Verhältnis der Diffusionskonstanten einiger Gase in 33 g %iger Hämoglobinlösung zu den entsprechenden Diffusionskonstanten in Wasser.

T a b e l l e 6

Untersuchungsmaterial	CO_2-Diffusionskonstante $K \left(\frac{cm^2}{min \times atm.}\right)$	Autor (Jahr)
Rindererythrozyten (33% Hb)	$3{,}3 \times 10^{-4}$	diese Arbeit
Gehirn	$5{,}8 \times 10^{-4}$	SIESJÖ und THEWS (1962)
Glatter Muskel	$5{,}0 \times 10^{-4}$	WRIGHT (1934)
Quergestreifter Muskel	$4{,}7 \times 10^{-4}$	WRIGHT (1934)
Bindegewebe	$2{,}7 \times 10^{-4}$	WRIGHT (1934)

Tab. 6: CO_2-Diffusionskonstanten in verschiedenen biologischen Medien bei 22°C.

Tabelle 7

Flux ($\frac{mol}{cm^2 \times min}$)	Temperatur (^oC)	Hämoglobin-Konzentration (g/100 ml)	Azetazolamid-Konzentration (g/100 ml)
$2,2 \times 10^{-8}$	22^oC	30	0
$3,0 \times 10^{-8}$	38^oC	30	0
$0,9 \times 10^{-8}$	22^oC	30	0,2 - 1,4
$1,3 \times 10^{-8}$	22^oC	4	0

Tab. 7: CO_2-Fluxe durch Schichten von Hämoglobinlösungen in Millipore-Filtern bei unterschiedlichen Hämoglobin-Konzentrationen und Temperaturen, mit und ohne Azetazolamid. Die Hämoglobinlösungen wurden durch Hämolyse von Rindererythrozyten gewonnen. Die Fluxe wurden nach Gl. (12) errechnet.

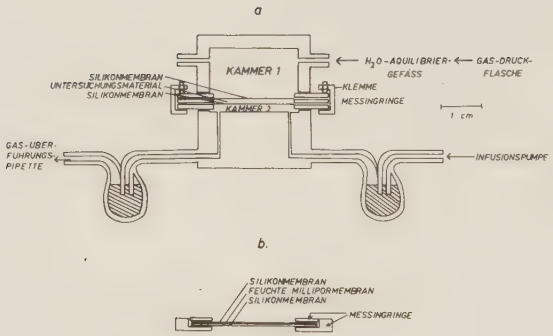

Abb. 1: Meßanordnung zur Bestimmung der CO_2-Diffusionskonstanten in Lösungen:

a zeigt die Kammern mit einer filterfreien Schicht

b gibt den Schichtaufbau bei Messungen an getränkten Millipore®-Filtern wieder

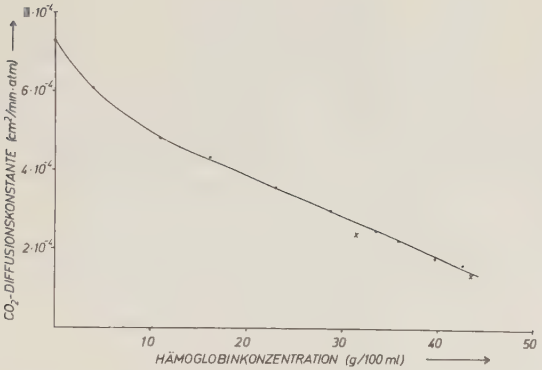

Abb. 2: Die CO_2-Diffusionskonstante bei 22°C in Hämoglobinlösungen in Abhängigkeit von der Hämoglobin-Konzentration.

- ● Mittelwerte aus Messungen an stromahaltigen Hämoglobinlösungen, die aus zentrifugierten Rindererythrozyten gewonnen wurden
- x Mittelwerte von je 9 Messungen an Lösungen von reinem, zweimal umkristallisiertem Hämoglobin.

Die CO_2-Randpartialdrucke der Schichten betrugen ca. 100 und 650 Torr. Die Messungen erfolgten an mit Hämoglobinlösungen getränkten Millipore®-Filtern.

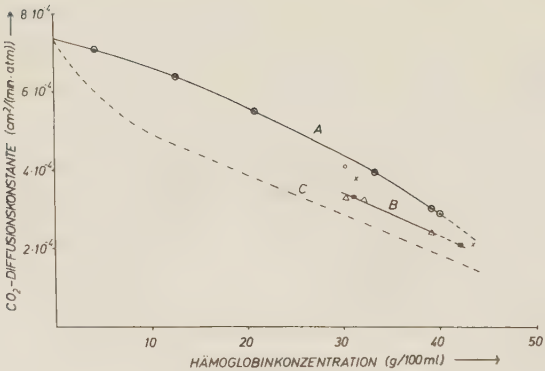

Abb. 3: Die CO_2-Diffusionskonstante bei CO_2-Randpartialdrucken von 10 und 50 Torr. Die CO_2-Diffusionskonstanten sind in Abhängigkeit von der Hämoglobin-Konzentration aufgetragen. Temperatur: 22°C.

⊙ (Kurve A) CO_2-Diffusionskonstante in azetazolamidfreien Hämolysaten von Rindererythrozyten

Δ (Kurve B) CO_2-Diffusionskonstante in azetazolamidhaltigen Hämolysaten

x CO_2-Diffusionskonstante in azetazolamidfreien Lösungen reinen Hämoglobins

■ CO_2-Diffusionskonstante in azetazolamidhaltigen Lösungen reinen Hämoglobins

o CO_2-Diffusionskonstante in Lösungen reinen Hämoglobins mit Carboanhydratase

Kurve C gibt zum Vergleich die CO_2-Diffusionskonstante in Hämolysaten bei hohen CO_2-Partialdrucken an. Die Messungen wurden an getränkten Millipore®-Filtern durchgeführt.

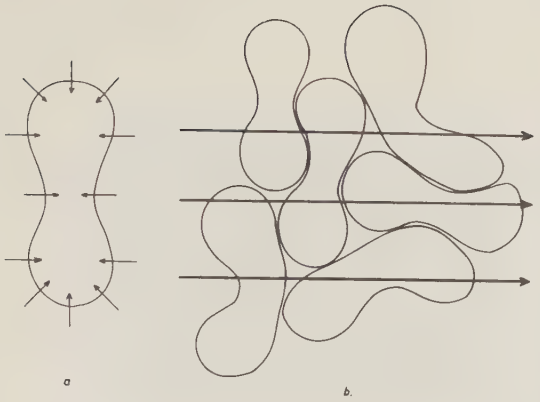

Abb. 4: Schematische Darstellung des Diffusionsweges im Erythrozyten

a beim Gasaustausch in einer Mischkammer und
b beim stationären Diffusionsstrom durch eine Schicht zentrifugierter Erythrozyten.

Die durchschnittlichen Diffusionswege im Erythrozyten sind im letzten Falle wesentlich größer. Die Pfeile deuten die Richtung der Partialdruckgradienten und des Diffusionsstromes an.

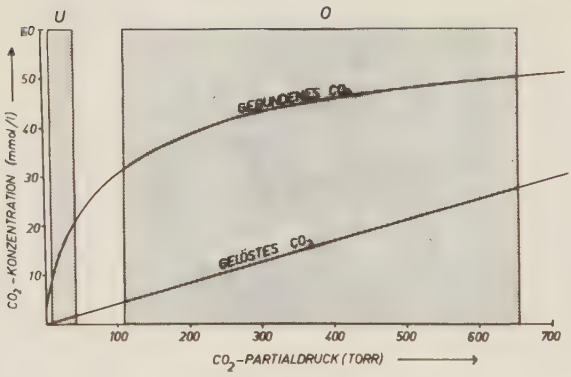

Abb. 5: Konzentrationen des gebundenen und gelösten CO_2 in zentrifugierten Rindererythrozyten mit einer Hämoglobin-Konzentration von 30 g % bei 22°C. O bzw. U kennzeichnen die beiden CO_2-Partialdruckbereiche, in denen die Diffusionsmessungen erfolgten.

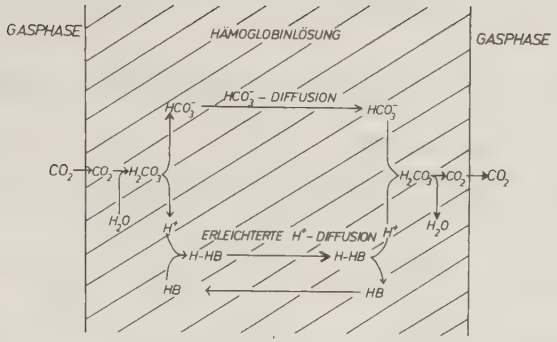

Abb. 6: Schematische Darstellung eines Mechanismus der erleichterten CO_2-Diffusion, durch Bicarbonat- und Hämoglobin-Diffusion.

Literaturverzeichnis

d'ANS, J. und E. LAX: Taschenbuch für Chemiker und Physiker. Berlin - Göttingen - Heidelberg 1949.

ANDERSEN, O.S., K. ENGEL, K. JØRGENSEN and P.ASTRUP: A micro method for determination of pH, carbon dioxide tension, base excess and standard bicarbonate in capillary blood. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12, 172-176 (1960).

BARTELS, H., E. BÜCHERL, C.W. HERTZ, G. RODEWALD und M. SCHWAB: Lungenfunktionsprüfungen - Methoden und Beispiele klinischer Anwendung. Berlin - Göttingen - Heidelberg 1959.

CRANK, J.: The mathematics of diffusion. Oxford 1957.

DAVIDSON, J.F. and E.J. CULLEN: The determination of diffusion coefficients for sparingly soluble gases in liquids. Trans. Inst. Chem. Eng. (London) 35, 51-60 (1957).

EIGEN, M. und L. deMAEYER: Die Geschwindigkeit der Neutralisationsreaktion. Naturwissenschaften 42, 413-414 (1955).

EIGEN, M. and L. deMAEYER: Self-dissociation and protonic charge transport in water and ice. Proc. roy. Soc. A 247, 505-533 (1958).

ENNS, T.: Facilitation of carbon dioxide transport by carbonic anhydrase. Science 155, 44-47 (1967).

FATT, I. and R. COLEY LA FORCE: Theory of oxygen transport through hemoglobin solutions. Science 133, 1919-1921 (1961).

FERGUSON, J.K.W.: Carbamino compounds of CO_2 with human haemoglobin and their role in the transport of CO_2. J. Physiol. 88, 40-55 (1936).

FORSTER, R.E.: Rate of gas uptake by red cells. In: Handbook of Physiology Section 3. Respiration Vol. 1, edited by W.O. Fenn and H. Rahn. Washington, D.C. American Physiological Society, 827-837 (1964).

GROTE, J. und G. THEWS: Die Bedingungen für die Sauerstoffversorgung des Herzmuskelgewebes. Pflügers Arch. 276, 142-165 (1962).

HAGENBACH, A.: Über die Diffusion von Gasen durch wasserhaltige Gelatine. Ann. Phys. Chem. 65, 673-706 (1898).

HENNIG, A.: Bestimmung der Oberfläche beliebig geformter Körper mit besonderer Anwendung auf Körperhaufen im mikroskopischen Bereich. Mikroskopie 11, 1-20 (1956).

HIMMELBLAU, D.M.: Diffusion of dissolved gases in liquids. Chem. Rev. Baltimore, Md. 64, 527-550 (1964).

HUCKABEE, W.E.: Spectrophotometric analysis of uncontaminated blood for oxyhemoglobin. J. Lab. Clin. med. 46, 486-493 (1955).

HÜFNER, G.: Über die Bestimmung der Diffusionskoeffizienten einiger Gase für Wasser. Ann. Phys.phys. Chem. 60, 134-168 (1897).

KLEIHAUER, E. und K. BETKE: Zur Hämoglobinbestimmung mittels Cyanhämiglobin nach Betke und Savelsberg. Das ärztl.Lab. 3, 202-205 (1957).

KREUZER, F. and W.Z. YAHR: Influence of red cell membrane on diffusion of oxygen. J. Appl. Physiol. 15, 1117-1122 (1960).

LANDOLT, H. und R. BÖRNSTEIN: Zahlenwerte und Funktionen aus Physik, Chemie, Astronomie, Geophysik und Technik. Berlin - Göttingen - Heidelberg 1960, II. Band, 7. Teil, 110-111.

LONGMUIR, I.S., R.E. FORSTER and C.-Y. WOO: Diffusion of carbon dioxide through thin layers of solution. Nature 209, 393-396 (1966).

LONGMUIR, I.S. and F.J.W. ROUGHTON: The diffusion coefficients of carbon monoxide and nitrogen in haemoglobin solutions. J. Physiol. 118, 264-275 (1952).

MIYAMOTO, Y.: Personal communication (1969).

MOLL, W.: Die Carrier-Funktion des Hämoglobins beim Sauerstoff-Transport im Erythrozyten. Pflügers Arch. 275, 412-419 (1962).

MOLL, W.: The diffusion coefficient of haemoglobin. Resp.Physiol. 1, 357-365 (1966).

NICOLSON, P. and F.J.W. ROUGHTON: A theoretical study of the influence of diffusion and chemical reaction velocity on the rate of exchange of carbon monoxide and oxygen between the red blood corpuscle and the surrounding fluid. Proc. roy. Soc. B, (London), 138, 241-264 (1951).

PARPART, A.K.: The preparation of red cell membranes. J. cell. comp. Physiol. 19, 248-249 (1942).

PERUTZ, M.F.: Submicroscopic structure of the red cell. Nature 161, 204 (1948).

PIIPER, J.: Geschwindigkeit des CO_2-Austausches zwischen Erythrozyten und Plasma. Pflügers Arch. 278, 500-512 (1964).

PONDER, E.: Hemolysis and related phenomena. New York 1948.

REHM, T.R., A.J. MOLL and A.L. BABB: Unsteady state absorption of carbon dioxide by dilute sodium hydroxide solutions. Am. Inst. chem. eng. J. (Aiche-Journal) 9, 760-765 (1963).

RINGBOM, A.: Über die Bestimmung der Diffusionskoeffizienten von Gasen in Flüssigkeiten. Zeitschrift für anorgan. und allg. Chemie 238, 94-102 (1938).

ROUGHTON, F.J.W.: Kinetics of gas transport in the blood. British Med. Bull. 19, 80-89 (1963).

ROUGHTON, F.J.W.: The average time spent by the blood in the human lung capillary and its relation to the rates of CO uptake and elimination in man. Am. J. Physiol. 143, 621-633 (1945).

RUCH, T.C. and H.D. PATTON: Physiology and Biophysics. Philadelphia and London 1965.

SCHOLANDER, P.F.: Oxygen transport through hemoglobin solutions. Science 131, 585-590 (1960).

SCHOLANDER, P.F.: Analyzer for accurate estimation of respiratory gases in one-half cubic centimeter samples. J. biol. Chem. 167, 235-249 (1947).

SIESJÖ, B.K. und G. THEWS: Ein Verfahren zur Bestimmung der CO_2-Leitfähigkeit und des CO_2-Diffusionskoeffizienten im Gehirngewebe. Pflügers Arch. 276, 192-210 (1962).

van SLYKE, D.D., J. SENDROY, A. HASTINGS and J.M. NEILL: Studies of gas and electrolyte equilibria in blood. J. biol. Chem. 78, 765-799 (1928).

STEFAN, M.J.: Über die Diffusion der Kohlensäure durch Wasser und Alkohol. Sitzungsber.Österreichische Akademie der Wissenschaften, Wien. Math.-naturwissenschaftliche Klasse, Abt. II, 77, 371-409 (1878).

TAMMANN, G. und V. JESSEN: Über die Diffusionskoeffizienten von Gasen in Wasser und ihre Temperaturabhängigkeit. Z.Anorgan. Allg. Chem. 179, 125-144 (1929).

TANG, Y.P. and D.M. HIMMELBLAU: Interphase mass transfer for laminar concurrent flow of carbon dioxide and water between parallel plates. Am. Inst. chem. eng. J. New York 9, 630-635 (1963).

THEWS, G.: Ein Verfahren zur Bestimmung des O_2-Diffusionskoeffizienten, der O_2-Leitfähigkeit und des O_2-Löslichkeitskoeffizienten im Gehirngewebe. Pflügers Arch. 271, 227-244 (1960).

TOMKEIEFF, S.I.: Linear intercepts, areas and volumes. Nature 155, 24 (1945).

UNVER, A.A. and D.M. HIMMELBLAU: Diffusion coefficients of CO_2, C_2H_4, C_3H_6, and C_4H_8 in water from 6^{o} to $65^{o}C$. J. Chem. Eng. D. Washington, D.C. 9, 428-431 (1964).

WRIGHT, CH.I.: The diffusion of carbon dioxide in tissues. J. gen. Physiol. 17, 657 (1934).

WYMAN, J.: Facilitated diffusion and the possible role of myoglobin as a transport mechanism. J. biol. chem. 241, 115-121 (1966).

Herrn Professor Dr. W. Moll danke ich für die Stellung des Themas und die intensive Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. H. Bartels danke ich für wertvolle Ratschläge.

Herrn Professor Dr. K. Brecht danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Physiologischen Institut.

Fräulein H. Voß und Fräulein H. Bülow danke ich für technische Hilfe.

Lebenslauf

Als Sohn des Heinrich Gros und seiner Ehefrau Else, geb. Kraus, wurde ich, Gerolf Gros, am 30.12.1942 in Ettlingen geboren. 1949 trat ich in die Volksschule Säckingen ein. Seit 1953 besuchte ich das Kantgymnasium Karlsruhe, wo ich im April 1962 das Abitur bestand.

Im Sommersemester 1962 nahm ich an der Universität Tübingen das Studium der Medizin auf. Hier legte ich 1963 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1965 die Ärztliche Vorprüfung und im Februar 1969 das Medizinische Staatsexamen ab.

BAMBERGER FOTODRUCK - RUDOLF RODENBUSCH
8600 BAMBERG-Markusplatz 22 - Telefon : 0951/62794